

气相色谱-质谱联用法检测中毒酒样中的钩吻碱

Determination of Gelsemine in Poisoning of Liquor Samples by Gas Chromatography Mass Spectrometry

张 瑞^{1,2}, 雷宁生¹, 林 莹², 苏小川¹

ZHANG Rui^{1,2}, LEI Ning-sheng¹, LIN Ying², SU Xiao-chuan¹

(1. 广西壮族自治区疾病预防控制中心, 广西南宁 530028; 2. 广西大学轻工与食品工程学院, 广西南宁 530004)

(1. Guangxi Province Center for Control and Prevention, Nanning, Guangxi, 530028, China; 2. Institute of Light Industry and Food Engineering, Guangxi University, Nanning, Guangxi, 530004, China)

摘要: 用气相色谱-质谱联用法(GC-MS)测定引起中毒的定性含有钩吻素的自酿酒酒样品。样品用自制无水硫酸钠小柱干燥净化后,在 DB-5MS(30m×0.25mm×0.25μm)毛细管色谱柱上分离,用气-质联用仪进行测定。结果样品定性检出钩吻素甲,色谱分离效果良好。本方法简单、快捷,灵敏度高,测定结果准确、可靠,适合日常钩吻碱中毒样品的检测。

关键词: 钩吻碱 中毒 气相色谱-质谱联用

中图分类号:O657.63 文献标识码:A 文章编号:1005-9164(2012)03-0239-02

Abstract: To separate and determine gelsemine from the wine in a poisoning case by means of GC/MS. After being dried over anhydrous sodium sulfate, purified samples were separated on a DB-5MS column(30m×0.25mm×0.25μm) and detected by gas chromatography with mass spectrometry. The denied gelsemine was found in the case sample, and the chromatographic separation of the peaks is fine. The method is simple, fast, and sensitive with accurate and reliable results, which is suitable to conduct routine determination of gelsemine from poisoning incident.

Key words: gelsemine, poisoning, GC-MS

钩吻 [*Gelsemium elegans* (Gardn. et Champ.) Benth.] 为马钱科胡蔓藤属植物,又名断肠草、猪人參等^[1]。钩吻始载于《神农本草经》,性温味辛、苦,有大毒^[2],全草可入药,主要分布于福建、浙江等地,是我国传统的药用植物,也是世界著名的剧毒药物^[3]。吲哚类生物碱是钩吻中的主要化学成分,也是其毒性的主要来源^[4]。国内外学者已从钩吻中分离出包括钩吻素子、钩吻素甲、钩吻素寅、钩吻素卯、钩吻素辰、钩吻素丙、钩吻素丁、钩吻素戊、钩吻素己、钩吻素庚以及胡蔓藤碱甲、胡蔓藤碱乙、胡蔓藤碱丙、胡蔓藤碱丁等 40 多种单体,其毒性大小不同,其中以钩吻素甲毒性最强^[4]。钩吻总生物碱或粗提物具有抗肿瘤、镇痛、抗银屑病等作用,但是总碱的中毒剂量与有效治疗剂量相接近,误服常会引起中毒。

目前,钩吻碱的检测方法有薄层色谱法(TLC)^[5]和液相色谱(HPLC)^[6],而气相色谱-质谱联用法(GC-MS)与上述方法相比,具有定性准确可靠、定量不受样品基质干扰的优点。参照有文献^[7, 8],本实验选用 GC-MS 法,对一起因服用含钩吻素的自酿酒酒引起中毒的患者送检样品进行检测。

1 材料与方 法

1.1 仪器和试剂

仪器为 HP GC6890/5973 气相色谱-质谱联用仪,色谱柱 DB-5MS 30m×0.25mm×0.25μm 石英毛细管柱。高速离心机,10000 转/min,20×10.0ml 斜角转子。

分析纯试剂,无水硫酸钠(AR),购于广州化学试剂厂(经 450℃烘烤 5h,备用)。分析样品是柳江县疾控中心采集的 3 人喝剩的自制药酒 600ml。

收稿日期:2012-04-10

修回日期:2012-05-26

作者简介:张 瑞(1982-),男,技师,主要从事理化检验工作。

1.2 方法

1.2.1 样品预处理

取中毒自制药酒样品 5.0ml, 经盛有适量无水硫酸钠的自制干燥净化柱过滤后, 滤液收集于 10ml 离心管中, 在 10000r/min 条件下离心 5min, 取 1.0ml 上清滤液封装于自动进样器样品瓶中, 供 GC-MS 检测用。

1.2.2 仪器条件

色谱条件: 恒流进样模式, 载气为 He, 流速 1ml/min, 炉温程序: 初始温度 100℃, 保持 3min, 以 13℃/min 升至 180℃, 保持 1min, 以 10℃/min 升至 230℃, 保持 1min, 以 5℃/min 升至 270℃, 保持 2min, 再以 3℃/min 升至 295℃, 保持 3min, 进样口温度为 270℃。不分流进样, 进样量为 1.0 μ l。

质谱条件: 离子源为电子轰击源(EI) 70eV; 离子源温度 230℃, 接口温度 280℃; 质量范围 30 ~ 450amu。EMI 电压 1760eV。

1.2.3 定性检测

GC-MS 全扫描检测(SCAN), 检索方式美国 HP 公司 5973/6890 气-质联用仪工作站 PBM 自动检索。质谱库 NIST02.L (美国国家标准质谱库)。选择离子检测(SIM), 钩吻素甲的主要特征离子: m/z 108 (基峰)、134、251、279 和 322 (分子离子峰)^[9]。

2 结果

对中毒自制药酒样品净化液进行 Scan 检测, 进样量 1.0 μ l, 在其 TIC 图(见图 1)上 RT 为 25.49min 处检出可疑物质钩吻素甲。经气相色谱-质谱联用仪 PBM 检索, 该可疑物质谱图与 NIST02.L 谱库中的钩吻素甲标准谱图完全吻合(见图 2), 样品定性检出钩吻素甲。化合物 CAS Number 为 000509-15-9。

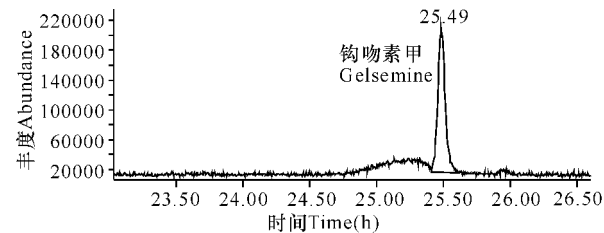


图 1 中毒药酒样品 TIC(Scan)图谱

Fig. 1 Total ion chromatograms of poisoned wine sample

对中毒药酒样品净化液进行 SIM 检测, 选择 m/z 为 108、134、251、279 和 322 的特征离子, 其中 108 为基峰离子, 322 为分子离子峰离子, 5 个特征离子在其 TIC 图谱(图 3)上 RT 为 25.47min 处完全重叠, 各离子峰度比与质谱库标准质谱图(图 4)吻合, 进一步确证 Scan 检测结果的准确性。

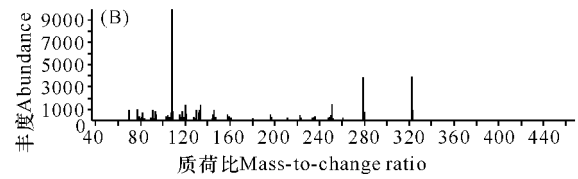
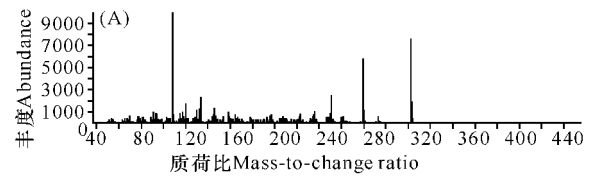


图 2 中毒药酒样品(A)和标准质谱(B)钩吻素甲的质谱(Scan)

Fig. 2 Mass spectrometry of poisoned wine sample (A) and standard gelsemine (B)

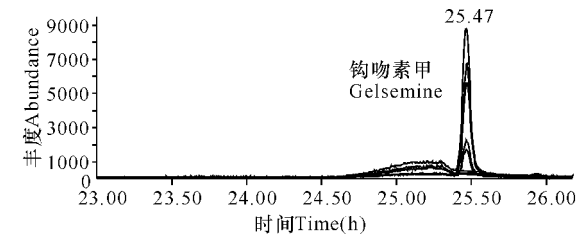


图 3 中毒酒样钩吻素甲选择离子 TIC 图谱(SIM)

Fig. 3 Selected ion chromatograms of poisoned wine sample

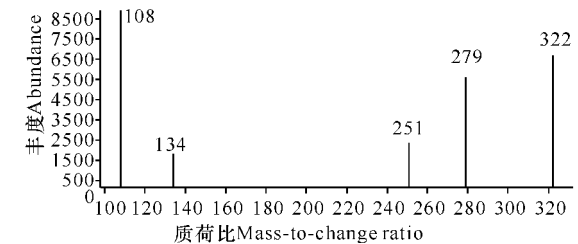


图 4 中毒药酒样品钩吻素甲选择离子质谱(SIM)

Fig. 4 Selected ion mass spectrometry of poisoned wine sample

3 结束语

本实验通过 GC-MS 法对中毒药酒样品中的钩吻碱成份进行定性检测, 前处理过程无需有毒有机溶剂进行萃取, 样品直接过自制干燥净化柱净化后高速离心进样。方法简单、快捷, 能在紧急情况下为中毒诊断提供快速、准确可靠的检验结果。

钩吻, 也即断肠草分布于广西各地, 误采该草为原料自酿保健药酒饮用导致的中毒事件时有发生。钩吻素甲为神经性剧毒毒素, 误食者中毒后必须尽快查明原因并加以救治, 因此, 该方法适用于日常钩吻碱的快速检测, 可以为此类中毒诊断提供准确可靠的科学依据。

(下转第 243 页 Continue on page 243)

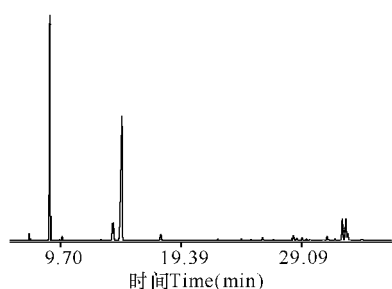


图3 巨尾桉挥发油气相色谱对照指纹图谱

Fig. 3 Fingerprints of reference to essential oil of

E. grandis × *E. urophylla*

表1 13批巨尾桉挥发油相似度

Table 1 Similarity results of 13 batches of essential oil of

E. grandis × *E. urophylla*

编号 No.	产地 Sources	相似度 Similarity
1	邕宁南晓 1 Yongning 1	0.981
2	扶绥 Fushui	0.997
3	横县新福 Hengxian Xinfu	0.993
4	林科院 Linkeyuan	0.993
5	马山 Mashan	0.995
6	邕宁南晓 2 Yongning 2	0.946
7	钦州 1 Qinzhou 1	0.996
8	钦州 2 Qinzhou 2	0.925
9	钦州 3 Qinzhou 3	0.964
10	武鸣府城 Wuming Fucheng	0.997
11	武鸣伊岭岩 Wuming Yilingyan	0.971
12	邕宁 Yongning	0.974
13	大塘 Datang	0.980

3 结论

巨尾桉挥发油中主要含有 α -蒎烯、 β -蒎烯、1,8-桉叶油、 γ -松油烯、松油醇-4、龙脑、 α -松油醇、异龙脑等^[2,3]。其中,1,8-桉叶油含量较高而且比较稳定,故选其作为参照峰。13批样品测定结果显示广西多个地方种植的巨尾桉的指纹图谱特征成分基本相同,尽管一些共有组分在含量上有所差异,但是其相似度值均大于0.9,表明利用特征指纹图谱可以对巨尾桉挥发油进行质量控制。本研究所建立的气相色谱分析色谱条件可以使巨尾桉挥发油中各组分达到较好地分离效果,精密度、重复性、稳定性良好,为巨尾桉挥发油质量评价以及质量标准研究提供了科学依据。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[M]. 北京:化学工业出版社,2010:附录 XD, VI B.
- [2] 田玉红,刘雄民,陶明有. 巨尾桉叶挥发性成分的提取及成分分析[J]. 广西科学院学报,2006,22(增刊):466-468.
- [3] 林霄,刘布鸣,梁威,等. 速生桉叶精油的质量标准研究[J]. 广西科学院学报,2010,26(3):223-224,227.

(责任编辑:邓大玉)

(上接第 240 页 Continue from page 240)

参考文献:

- [1] 中华人民共和国药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[M]. 北京:化学工业出版社,2000:220.
- [2] 全国中草药汇编编写组. 全国中草药汇编:下册[M]. 北京:人民卫生出版社,1983:118-121.
- [3] 陈翼胜. 中国有毒植物[M]. 北京:科学出版社,1990:371,376.
- [4] 易金娥,袁慧. 钩吻毒素的研究进展[J]. 湖南环境生物职业技术学院学报,2002,8(4):26-30.
- [5] 黄伟雄,李沛生,范山湖,等. 应用 TLC 法鉴定断肠草中钩吻碱[J]. 华南预防医学,2008,34(1):60-62.
- [6] 陈卫琳,杨樱,吴水生. 闽产钩吻根茎叶中钩吻碱甲和钩吻素子及胡蔓藤碱甲的含量测定[J]. 福建中医药大学学报,2011,21(5):48-50,72.
- [7] 黄伟雄,李沛生,梁春穗,等. GC/MS 测定断肠草中钩吻碱方法研究[J]. 中国食品卫生杂志,2008,20(2):136-138.
- [8] 桑向玲,赵楚云,施文兵,等. 超声波萃取气相色谱-质谱法测定胃内容物中的钩吻碱[J]. 广东公安科技,2006(3):26-28.
- [9] 邵昌松,肖惠贞. 用气相色谱-质谱联用技术分析钩吻碱中毒[J]. 中国卫生检验杂志,1999,9(1):40-41.

(责任编辑:邓大玉)